

**DER EINFLUSS  
VON ANTIGEN-ANTIKÖRPER-KOMPLEXEN AUF DIE  
ZELLULÄRE ANTIKÖRPERBILDUNG**

von

**Burckhard Frhr. Loeffelholz von Colberg**

aus

**Herrnhut**

**1972**



Aus der Abteilung für klinische Immunologie  
des Universitätskrankenhauses Erlangen-Nürnberg  
Vorstand: Professor Dr. med. F. Scheiffarth

---

# **DER EINFLUSS VON ANTIGEN-ANTIKÖRPER-KOMPLEXEN AUF DIE ZELLULÄRE ANTIKÖRPERBILDUNG**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Alexander-Universität  
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

**Burckhard Frhr. Loeffelholz von Colberg**

aus

**Herrnhut**

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät der  
Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. med. Gerhard Koch  
Referent: Prof. Dr. med. Friedrich Scheiffarth  
Tag der mündlichen Prüfung: 18.8.1972

## Inhaltsverzeichnis

|      |                                                 |    |
|------|-------------------------------------------------|----|
| I.   | Einleitung                                      | 1  |
| II.  | Die Kinetik der Antigen-Antikörper-Komplexe     | 2  |
| III. | Material und Methoden                           | 7  |
| 1.   | Tiere                                           | 7  |
| 2.   | Gewinnung der Immunseren                        | 7  |
| 3.   | Herstellung der Immunkomplexe                   | 9  |
| 4.   | Herstellung aggregierter Immunglobulin-komplexe | 9  |
| 5.   | Applikation der Komplexe                        | 10 |
| 6.   | Nachweis der zellulären Antikörper-bildung      | 12 |
| IV.  | Ergebnisse                                      | 20 |
|      | Tabellen                                        | 23 |
| V.   | Diskussion                                      | 28 |
| VI.  | Zusammenfassung                                 | 33 |
| VII. | Literaturverzeichnis                            |    |



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41548612\\_0020](https://archive.org/details/IA41548612_0020)

## I. Einleitung.

Mit der Entdeckung des immunologischen Abwehrsystems ist die Rolle des Antigens klar definiert worden. Sein Auftreten im Organismus löst eine Reihe von Reaktionen aus, die schließlich zu einer entsprechenden, letztlich seiner Elimination dienenden Antwort führen. Die Rolle des Antikörpers über die einer neutralisierenden Substanz hinaus wurde erst in den jüngsten Jahren bekannt, nachdem ein Regelmechanismus in der Immunabwehr entdeckt worden war (19, 25). Doch hatten bereits frühere Untersuchungen die Problematik einer Interaktion zwischen Antigen und Antikörper auf die Immunantwort selbst behandelt (15). Diese Komplexe sind auch in jüngster Zeit mit besonderem Interesse in der klinischen Immunologie verfolgt worden, nachdem die Vermutung ausgesprochen worden war, daß sie bei bestimmten organlokalisierten Autoaggressionsprozessen eine dominierende Rolle spielen (13, 21). Aus diesem Grunde schien es gerechtfertigt, eine derartige Stimulation sog. Immunkomplexe auf die Abwehrreaktion zu untersuchen. Über eine unspezifische Wirkung hinaus sollte der Einfluß auf eine spezifische Primärantwort nachgewiesen werden, wobei die lokale Hämolyse im Gel (Plaque-Technik) als Nachweismethode für die zelluläre Antikörpersynthese herangezogen wurde.

## II. Die Kinetik der Antigen-Antikörper-Komplexe.

Nach dem Eindringen eines Antigens in einen Organismus wird die spezifische Immunabwehr in Gang gesetzt. Über eine Reihe von Einzelprozessen kommt es schließlich im Falle der sog. humoralen Abwehr zu frei zirkulierenden Antikörpern. Diese gehen aufgrund ihrer Spezifität mit dem entsprechenden Antigen eine Bindung ein. Infolge der kontinuierlich, dabei schnell ansteigenden Konzentration der Antikörper im Serum ist es die Regel, daß einem gewissen Antigenangebot zunächst eine relativ geringe Menge an entsprechenden Antikörpern gegenübersteht. Die sich daraus ergebenden Immunkomplexe bestehen vorwiegend aus Antigen und nur zum geringen Teil aus Antikörpern, sodaß man von einem Antigenüberschuß spricht. Bezogen auf den Eiweißgehalt beträgt dieser ein Vielfaches der Antikörpermenge. Durch diese Reaktion wird Antigen gebunden, wodurch sich sein Gehalt in freier Form im Blut vermindert (23, 24). Gleichzeitig steigt die Ausschüttung an Antikörpern an, sodaß sich das Verhältnis der nunmehr auftretenden Komplexe zugunsten der Antikörper verschiebt, bis es zu einem Äquivalenzbereich und darüber hinaus zum Antikörperüberschuß in den Immunkomplexen kommt.

Grundsätzlich unterscheiden sich die Antigen-Antikörper-Komplexe entsprechend dem Verhältnis des Gehalts an Antigen und Antikörper hinsichtlich ihrer physika-

lischen wie auch biologischen Wirkungen. Aufgrund einer Netzbildung zwischen löslichem Antigen mit mehreren Determinanten und Antikörpern kommt es zu einer Präzipitation. Dies ist nicht mehr der Fall, sofern einer der beiden Reaktionspartner wesentlich überwiegt. Sowohl im Antigen- wie im Antikörperüberschuß sind die Immunkomplexe löslich. Dies übt in gewisser Weise auch auf die biologische Aktivität einen Einfluß aus.

Der Ort der Bildung von Immunkomplexen ist durch die Lokalisation des Antigens und des Antikörpers festgelegt. Sofern die Antikörper an eine Zelle gebunden sind, wie dies insbesondere bei den Reaginen der Fall ist, die eine Einzelklasse innerhalb der Immunglobuline darstellen, wird nur ein frei zirkulierendes Antigen seinen Reaktionspartner finden. Die Komplexbildung findet dann unmittelbar an der Zelloberfläche statt. Ist andererseits das Antigen an einer Zelloberfläche gelegen oder Bestandteil der Zellmembran selbst, so wird nur ein zirkulierender Antikörper mit ihm reagieren können. Auch in diesem Falle läuft die Komplexbildung unmittelbar an der Zelle ab. In beiden Fällen wird die Zelle Schaden nehmen, wobei es von Bedeutung ist, wo und welcher Natur der Komplex ist. Die an Mastzellen in großer Zahl gebundenen Reagine bilden Komplexe, die auch ohne Koppelung von Komplement und dessen Aktivierung eine Zerstörung der Zelle mit nachfol-

gender Mobilisation biogener Amine und einen klinisch erkennbaren Schock auslösen. Anders ist dies bei den Komplement bindenden zytotoxischen Antikörpern, die gegen antigene Determinanten der Zelloberfläche selbst gerichtet sind. Hier erfolgt ebenfalls eine Zerstörung, die, wie am Modell des Erythrozyten gezeigt werden kann, zu einer Lyse führt. Sofern jedoch weder das Antigen noch der Antikörper an eine Zelle gebunden sind, reagieren sie frei und unabhängig von festen Strukturen. Ihre Aktivität entfalten sie, je nachdem, an welchen Ort sie gelangen und wo sie verbleiben. Beim Arthus-Phänomen diffundieren sie aus dem Gewebe und aus der Blutbahn aufeinander zu, um in der Gefäßwand zu präzipitieren (12, 18). Hier kommt es dann zu den entzündlichen Erscheinungen, welche dieses Phänomen begleiten. Dieses Modell macht zugleich deutlich, daß Präzipitate geeignet sind, Entzündungsfaktoren auszulösen. Diese werden zum Teil durch die Mobilisation von Zellen des RHS, zum Teil jedoch auch von unspezifischen Zellen bewirkt. Freie Antigen-Antikörper-Komplexe zeigen je nach ihrer Relation eine unterschiedliche Tendenz, sich an Zellen bzw. Endothelien anzulagern. In der Regel ist anzunehmen, daß mit größerem Antigenüberschuß auch die Neigung zur Zellhaftung ansteigt. Dies hat insofern besondere Bedeutung, als vor allem am Anfang der Antigenzufuhr Immunkomplexe mit Antigenüberschuß gebildet werden, die an Endothelien haften und eine

Entzündung hervorrufen können. Klassisches Beispiel hierfür ist die sog. Serumkrankheit, bei der durch Anlagerung solcher Immunkomplexe mit Antigenüberschuß an Gefäßendothelien der Niere und anderer Organe eine Läsion des betreffenden Gewebes hervorgerufen wird (21). Sofern jedoch Immunkomplexe im Antikörperüberschuß zirkulieren, bleiben sie nicht haften, sondern werden von Zellen des RNS abgefangen und eliminiert (4). Dies geschieht in erster Linie in Leber, Lunge und Milz (1, 8, 11, 14). In diesen Organen sind es die Makrophagen, die in der Lage sind, Immunkomplexe aufzunehmen und zu verarbeiten, d.h. zu degradieren (2, 5). Werden Antigen-Antikörper-Komplexe intrakutan injiziert, so bilden sich an der Injektionsstelle Granulome, die Makrophagen in großer Anzahl enthalten. Diese Zellen haben sowohl Antigen als auch Antikörper aufgenommen. Die Reaktion wird milder bzw. bleibt ganz aus, wenn die Komplexe Antikörperüberschuß enthalten, sodaß angenommen werden muß, daß Antikörper vor der Aufnahme von Immunkomplexen in die Makrophagen schützen (16).

Die Tatsache, daß an Gewebszellen angelagerte Immunkomplexe entzündliche Reaktionen hervorrufen können, die unter Beteiligung immunkompetenter Elemente vorstatten gehen, hat die Möglichkeit einer Aktivierung aufgezeigt. Wie demonstriert werden konnte, bleiben

Antikörper allein an immunkompetenten Zellen nicht haften. Andererseits konnte die Haftfähigkeit von Immunkomplexen am Lymphozyten nachgewiesen werden. Dadurch ließ sich eine Stimulation der Zellaktivität hervorruufen, die sich unter anderem in einer erhöhten Einbaurrate von Thymidin in die zelleigene DNS zeigen ließ (6, 13). In gewisser Weise können die Immunkomplexe durch unspezifische Aggregate von Serumproteinen hinsichtlich der biologischen Aktivität vertreten werden (3).

Die Beteiligung der Makrophagen einerseits an der Elimination der Immunkomplexe, andererseits an der Aufarbeitung antigenen Materials bei der immunologischen Primärreaktion und die Fähigkeit von Immunkomplexen, Lymphozyten in ihrer Aktivität zu beeinflussen, ließen es möglich erscheinen, daß sie auf die Primärreaktion überhaupt einen Einfluß ausüben.

Dies sollt am Modell der zellulären Antikörperbildung nach Sensibilisierung mit heterologen Erythrozyten gezeigt werden.

### III. Material und Methoden.

#### 1. Tiere:

Die Antikörperbildung wurde an Mäusen des Inzuchtstammes AKR untersucht. Sie waren durchschnittlich 3 Monate alt, weiblichen Geschlechts und wogen etwa 30 Gramm. Zur Gewinnung von Immunseren wurden erwachsene Kaninchen von etwa 4 kg Körpergewicht genommen.

#### 2. Gewinnung der Immunseren:

Als Antigen wurden Serumalbumin des Rindes (RSA) in gereinigter Form (Behring) und menschliches Vollserum (HS) verwandt. Das Humanserum wurde aus einem Pool von gesunden Blutspendern gewonnen und durch Zentrifugation von partikulären Substanzen gereinigt.

##### a) Sensibilisierungsschema:

|       |     |     |   |           |
|-------|-----|-----|---|-----------|
| RSA   | RSA | RSA |   | RSA       |
| HS    |     | HS  |   | HS        |
| <hr/> |     |     |   |           |
| 0     | 3   | 6   | 9 | 12 WOCHEN |

Die Kaninchen wurden in 3- bzw. 6- wöchigen Abständen sensibilisiert, und zwar nach obigem Schema, wobei das RSA insgesamt viermal, das HS insgesamt dreimal appliziert wurde. Die Einzeldosis betrug jeweils 0,1 gr (bezogen auf die Menge des Proteinanteils),

wobei die Bestimmung des Gewichtes beim RSA durch einfaches Abwiegen des bereits lyophilisierten Handelspräparates erfolgte. Die Gewichtsbestimmung des HS erfolgte in prinzipiell gleicher Weise, jedoch mußte das Serum zunächst lyophilisiert werden. Zur ersten Applikation wurde die entsprechende Gewichtsmenge in 5 ml physiologischer Kochsalzlösung gelöst und mit komplettem Freund'schen Adjuvans (Difco) im Verhältnis 1:1 gemischt. Die Injektion erfolgte jeweils in zwei Portionen in die Oberschenkelmuskulatur beider Hinterläufe. Die weiteren Injektionen erfolgten ohne Adjuvans.

b) Nachweis der Antikörper:

Zum Nachweis zirkulierender Antikörper wurde mehrfach, beginnend nach der zweiten Injektion, durch Ritzen der peripheren Ohrvene Blut entnommen. Das durch Zentrifugation gewonnene Serum wurde durch Doppeldiffusion auf Antikörper geprüft. Dazu wurden in einem 1%igen Agar Löcher von 2 mm Durchmesser und einem gegenseitigen Abstand von 6 bzw. 8 mm (Zentrum / Zentrum) mit dem entnommenen Serum und der Antigenlösung beschickt. Diese bestand aus einer 1 %igen Lösung von RSA bzw. HS in physiologischer NaCl- Lösung. Anhand der auftretenden Präzipitate konnte die Menge der zirkulierenden Antikörper grob geschätzt werden. Diese Untersuchungen dienten zur Orientierung über die Immunantwort. Sobald ein Anstieg der Antikörpermenge nicht mehr zu

verzeichnen war, wurde das Tier entblutet und das Serum durch Zentrifugieren von Partikeln gereinigt. Es wurde in kleinen Portionen bei  $-20^{\circ}\text{C}$  eingefroren.

3. Herstellung der Immunkomplexe :

Einer geometrischen Verdünnungsreihe von Immunseren wurde jeweils die gleiche Menge von Einzelantigen zugesetzt und unter makroskopischer Beobachtung mit Hilfe der schnell einsetzenden Trübung der Äquivalenzbereich bestimmt. Nach diesem Vorversuch wurde der Rest des Serums mit entsprechenden Antigenmengen so versetzt, daß Antigen-Antikörper-Komplexe im Äquivalenzbereich sowie im Antigen- und Antikörperüberschuß gewonnen wurden, indem einmal das Immunserum verdünnt, zum anderen Mal aber weniger Antigen zugesetzt wurde. Die Immunkomplexe wurden abgeschleudert, in gepufferter Kochsalzlösung gewaschen und nach der Biuretmethode auf ihren Eiweißgehalt untersucht.

4. Herstellung aggregierter Immunglobulinkomplexe :

Menschliches Immunglobulin wurde durch kombinierte Fällung mit Rivanol und Ammoniumsulfat gewonnen (17). Dabei wurde folgendermaßen verfahren:

- 20 ml Serum tropfenweise und unter ständigem Rühren zu 100 ml 0,3 %iger Rivanollösung geben.
- Mit dem Magnetrührer 15 min rühren.

- Bei 4° C über Nacht sedimentieren lassen.
- Überstand abheben und bei 3000 U/min schleudern.
- Den klaren Überstand mit Aktivkohle stufenweise entfärben.
- Aktivkohle durch Filtrieren entfernen.
- Flüssigkeit mit Immunglobulin unter ständigem Rühren mit trockenem Ammoniumsulfat bis zur 33 %igen Sättigung (= 209 g/l) versetzen.
- Bei 4° C über Nacht aufbewahren.
- Sediment aufwirbeln, anschließend bei 2500 U/min schleudern.
- Sediment in 1/3-gesättigter  $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$  waschen.
- Sediment in 2-4 ml Aqua dest. auflösen.
- Dialyse in Kälte 48 Stunden gegen physiologische NaCl- Lösung.
- Dialysat einengen.

5. Applikation der Komplexe:

Die durch Schleudern isolierten, durch die Biuret-Methode quantitativ erfaßten Immunkomplexe wurden in physiologischer NaCl- Lösung, die mit Tris gepuffert war, suspendiert und intraperitoneal appliziert.

Um einen groben Überblick über den Einfluß auf die Immunantwort zu erlangen, wurden zunächst nur Komplexe aus HS und den entsprechenden Antikörpern appliziert. Dabei wurde der Applikationszeitpunkt variiert:

Serie 1 : Applikation von 10 mg Komplexen 1 Tag vor der Sensibilisierung mit Hammelerythrozyten (HE, siehe Nr. 6).

Serie 2 : Applikation von 10 mg Komplexen am Tage der Sensibilisierung mit HE.

Serie 3 : Applikation von 10 mg Komplexen 1 Tag nach der Sensibilisierung mit HE.

Als Kontrolle diente eine unbehandelte, sensibilisierte Gruppe.

Nach der orientierenden Untersuchung, die erkennen ließ, daß eine Beeinflussung der Immunantwort am ehesten am Tage der Sensibilisierung erreicht werden kann, wurde in einem zweiten Vorversuch durch Variieren der applizierten Menge eine Dosis-Effekt-Beziehung hergestellt:

Serie 4 : Applikation von 1 mg Komplexen am Tage der Sensibilisierung.

Serie 5 : Applikation von 10 mg Komplexen am Tage der Sensibilisierung.

Serie 6 : Applikation von 100 mg Komplexen am Tage der Sensibilisierung.

Als Kontrolle diente eine unbehandelte, sensibilisierte Gruppe.

Da die Untersuchungen zeigten, daß mit einer Menge von 10 mg ein Effekt erzielt werden kann, wurde diese Menge in den weiteren Untersuchungen appliziert:

Serie 7 : Applikation von 10 mg HS - Anti-HS am Tag  
der Sensibilisierung.

Serie 8 : Applikation von 10 mg RSA - Anti-RSA am Tag  
der Sensibilisierung.

Serie 9 : Applikation von 10 mg aggregiertem Gammaglo-  
bulin am Tag der Sensibilisierung.

Als Kontrolle dienten Gruppen, die zum Zeitpunkt der  
Sensibilisierung HS oder RSA allein bzw. die entsprechen-  
den Antiseren appliziert erhielten, sowie eine weitere  
unbehandelte, lediglich sensibilisierte Gruppe.

Sämtliche Serien, einschließlich der Kontrollgruppen,  
bestanden aus 6 Tieren, die getrennt untersucht wurden.  
Es muß betont werden, daß sämtliche Tiere der jeweils  
korrespondierenden Gruppen mit derselben HE-Suspension  
sensibilisiert wurden.

#### 6. Nachweis der zellulären Antikörperbildung:

Zur Sensibilisierung der Mäuse wurden zuvor dreimal in  
physiologischer Kochsalzlösung gewaschene (jeweils 10  
Minuten bei 3000 U/min) HE intraperitoneal appliziert.  
Die HE-Suspension wurde auf  $4 \times 10^9$ /ml eingestellt und  
davon jedem Versuchstier 0,1 ml verabreicht. Eine Woche  
später wurden die Tiere getötet und die Milz steril  
entnommen.

Der Nachweis der zellulären Antikörperbildung erfolgte  
mit der in üblicher Weise vorgenommenen Plaque-Technik  
(7, 9, 10), wobei jeweil die direkte und die indirekte

Methode durchgeführt wurde:

A. Material:

1) Dulbeccos PBS (für die Unterschicht):

Lösung A (konz. x 10)

|                                  |         |
|----------------------------------|---------|
| NaCl                             | 8,09 g  |
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> | 1,159 g |
| KCl                              | 0,29 g  |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>  | 0,29 g  |
| Aqua dest. ad 80 ml.             |         |

Lösung B (nicht konz.)

|                       |        |
|-----------------------|--------|
| CaCl <sub>2</sub>     | 0,19 g |
| Aqua dest. ad 100 ml. |        |

Lösung C (nicht konz.)

|                                        |        |
|----------------------------------------|--------|
| MgCl <sub>2</sub> x 6 H <sub>2</sub> O | 0,19 g |
| Aqua dest. ad 100 ml.                  |        |

2) Gey's Lösung (für die Oberschicht):

Lösung A (konz. x 10)

|                                  |         |
|----------------------------------|---------|
| NaCl                             | 70,0 g  |
| Glucose                          | 10,0 g  |
| KCl                              | 3,7 g   |
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> | 3,01 g  |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>  | 0,237 g |
| Phenolrot                        | 0,1 g   |
| Aqua dest. ad 1000 ml.           |         |

Lösung B (nicht konz.)

|                                        |        |
|----------------------------------------|--------|
| MgCl <sub>2</sub> x 6 H <sub>2</sub> O | 0,42 g |
| CaCl <sub>2</sub>                      | 0,34 g |
| MgSO <sub>4</sub> x 7 H <sub>2</sub> O | 0,14 g |
| Aqua dest. ad 100 ml                   |        |

Lösung C (nicht konz.)

|                       |        |
|-----------------------|--------|
| NaHCO <sub>3</sub>    | 2,25 g |
| Aqua dest. ad 100 ml. |        |

3) Alsever - Lösung (Zur Aufbewahrung der HE):

|                       |        |
|-----------------------|--------|
| Glucose               | 2,05 g |
| Na- Citrat            | 0,80 g |
| NaCl                  | 0,42 g |
| Aqua dest. ad 100 ml. |        |

Ac. citric. wurde bis zur Einstellung eines pH von 6,1 zugegeben.

4) Modified barbital buffer (MBB; zur Verdünnung von Meerschweinchenkomplement):

|                                        |          |
|----------------------------------------|----------|
| 5,5-Diäthylbarbitursäure               | 2,8750 g |
| Na-5,5-Diäthylbarbiturat               | 1,8750 g |
| MgCl <sub>2</sub> x 6 H <sub>2</sub> O | 0,5083 g |
| CaCl <sub>2</sub> x 2 H <sub>2</sub> O | 0,1103 g |

a) Herstellung der konzentrierten Stammlösung:

- Das Barbital in 250 ml heißem Aqua dest. lösen.
- Nach und nach die übrigen Substanzen zugeben.

- Die Lösung abkühlen lassen.

- 1000 ml Aqua dest. zugeben.

Die konzentrierte Stammlösung kann bei Kühlschranktemperatur aufbewahrt werden.

b) Herstellung der Gebrauchslösung:

- Die Stammlösung im Verhältnis 1:4 mit Aqua dest. mischen.

Diese verdünnte Pufferlösung muß jede Woche frisch angesetzt werden.

B. Ablauf und Beurteilung der Versuche:

Sämtliche Arbeitsgänge erfolgten unter möglichst keimfreien Bedingungen.

1) Herstellung der Agarplatten:

a) Grundschicht:

Die Unterschicht wurde in Petrischalen (Polystren, Ø 87 mm) eingegossen. Sie bestand aus 9 Teilen Aqua dest. und 1 Teil Dulbeccos-Medium, wobei dem Gemisch 1,2 % Agarose zugegeben wurde. Die für jede Petrischale benötigte Menge betrug 7,5 ml. Im einzelnen wurde in folgender Reihenfolge verfahren:

- Die errechnete Agarosemenge im kochenden Wasserbad in 4 Teilen Aqua dest. verrühren.
- Nach vollständiger Auflösung der Agarose 5 Teile kaltes Aqua dest. zugeben.

- 0,8 Teile konzentrierte Dulbeccos- Lösung A und je 0,1 Teile Lösung B und C bei einer Temperatur von 60° C zufügen.
- Die Lösung bei einer Temperatur von 50° - 55° C gut mischen.
- Mit einer vorgewärmten Pipette 7,5 ml in jede Petrischale einfüllen.
- Zur gleichmäßigen Verteilung der Agaroselösung auf einer genau waagrecht ausgerichteten Unterlage erstarrten lassen.

Die präparierten Schalen können bei 4° C bis zu 48 Stunden aufbewahrt werden.

#### b) Oberschicht:

Die Oberschicht wurde durch Lösen von 0,6 % Agarose in einem Gemisch von 8 Teilen Aqua dest. und 2 Teilen Gey's- Lösung hergestellt. Je Petrischale wurden 2 ml benötigt.

#### Arbeitsgang:

- Die Agarose im kochenden Wasserbad in 8 Teilen Aqua dest. auflösen.
- 1 Teil konzentrierte Gey'-Lösung A sowie je 0,5 Teile Gey's- Lösung B und C zufügen.
- Die Agaroselösung durch einen Glasfilter G 3 (Schott & Gen.) geben.

Je 2 ml dieser Lösung wurden mit einer vorgewärmten Pipette in Reagenzgläser pipettiert, die zur weiteren

Verwendung in einem Wasserbad mit  $47^{\circ}$  C belassen wurden.

2) Herstellung einer Suspension von Plaque - bildenden Milzzellen (PMZ):

Die eine Woche zuvor mit HE sensibilisierten Versuchstiere wurden getötet und die Milz entnommen. Nach Zerkleinerung des Organs wurden die Teile mit einem Glasstab durch ein rostfreies Stahlsieb ( $60 \text{ Löcher/cm}^2$ ) in eine Petrischale mit Eagle's Medium verrieben. Nach 5-minütigem ruhigen Stehen des Gefäßes war eine Sedimentation der gröberen Organbestandteile erfolgt. Der nunmehr einzelne Milzzellen enthaltende Überstand wurde abgesaugt und anschließend 5 Minuten lang in einer Kühlzentrifuge bei 1000 U/min geschleudert. Um die Serumbestandteile völlig zu entfernen und um Milzzellen frei von humoralen Antikörpern zu erhalten, wurde der klare Überstand entfernt, das Sediment mit 5 ml Eagle's Medium versetzt und ein zweites Mal in gleicher Weise zentrifugiert. In einer Neubauer - Zählkammer wurde das Sediment auf seine Zellzahl untersucht und schließlich auf eine Konzentration von  $10^7$  Milzzellen/ml gebracht.

3) Eingießen der PMZ und HE in die Oberschicht:

Während sich die Reagenzgläser mit der vorbereiteten Oberschichtlösung in einem Wasserbad ( $47^{\circ}$  C) befanden,

wurden die Grundsichtplatten im Brutschrank vorgewärmt. Je 0,1 ml der Milzzell- und der HE- Suspension ( $4 \times 10^9$  HE/ml) wurden in die Reagenzgläser pipettiert, vorsichtig mit der Lösung vermischt, der Inhalt auf die Grundsicht gegeben und das Zell-Agar-Gemisch gleichmäßig verteilt. Bis zur Erhärtung der Oberschicht wurden die Petrischalen auf einer genau waagerecht ausgerichteten Unterlage abgestellt.

#### 4) Entwicklung der Platten:

##### a. Direkte Plaque-Technik:

Nach Erstarrung der Oberschicht wurden die Agarplatten 2 Stunden lang bei  $37^{\circ}$  C bebrütet (bei feuchter Atmosphäre, begast mit einem Luft-CO<sub>2</sub>-Gemisch im Verhältnis 96:4) und danach jeweils 2 ml frisches Meerschweinchenserum zugegeben, das 1:10 mit MBB verdünnt war. Anschließend erfolgte eine erneute 1-stündige Bebrütung.

##### b. Indirekte Plaque-Technik:

Die Agarplatten wurden zunächst 1 Stunde lang bei  $37^{\circ}$  C im Brutschrank gehalten, anschließend 2 ml eines inaktivierten, mit HE absorbierten Anti-Maus-Gamma-Globulin-Serum (Behringwerke) als sog. Entwicklerserum zugegeben und erneut 1 Stunde bebrütet. Nach Abgießung dieses Serums wurden 2 ml frisches, 1: 10 mit MBB verdünntes Meerschweinchenserum zugefügt und

weiter wie bei der direkten Plaque-Technik verfahren.

5) Auszählung der Plaques:

Ausgewertet wurden allein Platten, bei denen die Plaques von Einzelzellen gebildet wurden, was bei einer orientierenden mikroskopischen Durchmusterung festgestellt werden konnte. Die Auszählung selbst erfolgte bei der direkten wie bei der indirekten Technik mit der Lupe gegen einen erleuchteten Hintergrund.

Zweifelhafte Befunde wurden unter dem Auflichtmikroskop geklärt.

#### IV. Ergebnisse:

Alle Resultate finden sich in den Tabellen 1 bis 5. Um Veränderungen in der zellulären Antikörpersynthese zu objektivieren, wurden Signifikanzberechnungen durchgeführt. Nähere Einzelheiten können aus der einschlägigen Literatur entnommen werden (22).

##### 1. Die zelluläre Antikörperbildung bei unbehandelten, sensibilisierten Kontrollgruppen:

Alle Versuchstiere zeigten eine ausgeprägte Primärantwort mit etwa 150 direkten (DPMZ) und meist über 260 indirekten Plaque-bildenden Milzzellen (IPMZ). Wie bei Mäusen 7 Tage nach der Sensibilisierung erwartet, übertraf die Zahl der IPMZ die der DPMZ. (Tabellen 1 bis 5).

##### 2. Die zelluläre Antikörperbildung bei Variation des Applikationszeitpunktes (10mg HS-Anti-HS-Kompl.):

Während im Vergleich zur lediglich sensibilisierten Kontrollgruppe weder die Verabreichung 1 Tag vor noch 1 Tag nach der Sensibilisierung eine Steigerung der Primärantwort verursachte, zeigte sich eine signifikante Stimulation der 19 S- wie der 7 S - Antikörperbildung bei Applikation der gleichen Menge am Tage der Sensibilisierung. (Tabelle 1).

3. Die zelluläre Antikörperbildung bei Variation der Applikationsmenge (HS - Anti-HS - Komplexe am Tage der Sensibilisierung):

Die Applikation von 1 mg Komplexen veränderte die zelluläre Antikörpersynthese nicht. Demgegenüber bewirkten die Mengen von 10 mg und 100 mg eine signifikante Vermehrung der DPMZ und IPMZ. (Tabelle 2).

4. Die zelluläre Antikörperbildung nach Applikation von HS - Anti-HS - Komplexen:

Die Applikation der Komplexe bewirkte eine signifikante Vermehrung der PMZ. Im Vergleich zu lediglich sensibilisierten Tieren war sowohl die 19 S - als auch die 7 S - Antikörpersynthese erhöht. Ausschließliche Übertragung von HS oder Anti-HS verursachte keine Veränderung der Immunantwort. (Tabelle 3).

5. Die zelluläre Antikörperbildung nach Applikation von RSA - Anti-RSA - Komplexen:

Die Primärantwort wurde durch die übertragenen Komplexe nicht beeinflusst. Ebenso führte die Verabreichung von RSA oder Anti-RSA allein zu keiner Veränderung. (Tabelle 4).

6. Die zelluläre Antikörperbildung nach Applikation von hitzeaggregiertem Gammaglobulin:

Im Vergleich zu Gruppen, denen normales Gammaglobulin

verabreicht worden war oder die nur sensibilisiert wurden, zeigte die Applikation von hitzeaggregiertem Gammaglobulin keinen Einfluß auf die zelluläre Antikörpersynthese. (Tabelle 5).

|                                         | 10 mg Komplexe<br>1 Tag vor der<br>Sensibilisie-<br>rung. |      | 10 mg Komplexe<br>am Tage der<br>Sensibilisie-<br>rung. |      | 10 mg Komplexe<br>1 Tag nach der<br>Sensibilisie-<br>rung. |      | Kontrollgruppe<br>unbehandelter<br>sensibilisier-<br>ter Tiere. |      |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------------------------|------|---------------------------------------------------------|------|------------------------------------------------------------|------|-----------------------------------------------------------------|------|
|                                         | DPMZ                                                      | IPMZ | DPMZ                                                    | IPMZ | DPMZ                                                       | IPMZ | DPMZ                                                            | IPMZ |
| Zahl der MPZ unter<br>$10^6$ Milzzellen | 71                                                        | 136  | 129                                                     | 199  | 85                                                         | 115  | 93                                                              | 125  |
|                                         | 90                                                        | 137  | 146                                                     | 224  | 112                                                        | 128  | 116                                                             | 129  |
|                                         | 104                                                       | 141  | 161                                                     | 226  | 113                                                        | 138  | 124                                                             | 141  |
|                                         | 124                                                       | 146  | 165                                                     | 226  | 125                                                        | 146  | 129                                                             | 144  |
|                                         | 126                                                       | 156  | 170                                                     | 235  | 131                                                        | 150  | 131                                                             | 146  |
|                                         | 138                                                       | 169  | 184                                                     | 248  | 148                                                        | 151  | 139                                                             | 160  |
| Mittelwert                              | 109                                                       | 147  | 159                                                     | 226  | 119                                                        | 138  | 122                                                             | 144  |
| Standardabweichung                      | 25                                                        | 13   | 19                                                      | 18   | 21                                                         | 14   | 16                                                              | 13   |
| Signifikanz                             | -                                                         | -    | +                                                       | +    | -                                                          | -    |                                                                 |      |

DPMZ = Direkte Plaque-bildende Milzzellen  
IPMZ = Indirekte Plaque-bild. Milzzellen

Tabelle 1

|                                      | Applikation von 1 mg Komplexen |      | Applikation von 10 mg Komplexen |      | Applikation von 100 mg Komplexen |      | unbehandelte, sensibilisierte Kontrollgruppe. |
|--------------------------------------|--------------------------------|------|---------------------------------|------|----------------------------------|------|-----------------------------------------------|
|                                      | DPMZ                           | IPMZ | DPMZ                            | IPMZ | DPMZ                             | IPMZ |                                               |
| Zahl der PMZ unter $10^6$ Milzzellen | 138                            | 230  | 190                             | 265  | 206                              | 288  | 215                                           |
|                                      | 156                            | 248  | 192                             | 280  | 208                              | 289  | 225                                           |
|                                      | 173                            | 251  | 215                             | 288  | 212                              | 297  | 230                                           |
|                                      | 174                            | 252  | 230                             | 292  | 223                              | 301  | 248                                           |
|                                      | 188                            | 258  | 230                             | 311  | 246                              | 311  | 253                                           |
|                                      | 208                            | 270  | 241                             | 319  | 246                              | 320  | 261                                           |
| Mittelwert                           | 173                            | 251  | 216                             | 292  | 223                              | 301  | 239                                           |
| Standardabweichung                   | 24                             | 13   | 21                              | 20   | 18                               | 14   | 18                                            |
| Signifikanz                          | -                              | -    | +                               | +    | +                                | +    |                                               |

Tabelle 2

|                                                  | Applikation<br>von 10 mg<br>HS - Anti-HS |      | Applikation<br>von<br>HS |      | Applikation<br>von<br>Anti-HS |      | unbehandelte,<br>sensibilisier-<br>te Kontroll-<br>gruppe |      |
|--------------------------------------------------|------------------------------------------|------|--------------------------|------|-------------------------------|------|-----------------------------------------------------------|------|
|                                                  | DPMZ                                     | IPMZ | DPMZ                     | IPMZ | DPMZ                          | IPMZ | DPMZ                                                      | IPMZ |
| Zahl der PMZ unter<br>10 <sup>6</sup> Milzzellen | 285                                      | 311  | 205                      | 313  | 159                           | 251  | 210                                                       | 281  |
|                                                  | 256                                      | 318  | 186                      | 300  | 191                           | 249  | 173                                                       | 272  |
|                                                  | 261                                      | 328  | 198                      | 304  | 166                           | 268  | 193                                                       | 293  |
|                                                  | 229                                      | 328  | 216                      | 271  | 151                           | 280  | 174                                                       | 290  |
|                                                  | 238                                      | 335  | 227                      | 296  | 189                           | 273  | 182                                                       | 267  |
|                                                  | 247                                      | 321  | 199                      | 285  | 156                           | 286  | 168                                                       | 278  |
| Mittelwert                                       | 253                                      | 323  | 205                      | 295  | 169                           | 268  | 184                                                       | 280  |
| Standardabweichung                               | 19                                       | 9    | 17                       | 15   | 17                            | 14   | 13                                                        | 10   |
| Signifikanz                                      | +                                        | +    | -                        | -    | -                             | -    | -                                                         | -    |

Tabelle 3

|                                      | Applikation von 10 mg RSA-Anti-RSA |      | Applikation von RSA |      | Applikation von Anti-RSA |      | unbehandelte, sensibilisierte Kontrollgruppe |      |
|--------------------------------------|------------------------------------|------|---------------------|------|--------------------------|------|----------------------------------------------|------|
|                                      | IPMZ                               | DPMZ | IPMZ                | DPMZ | IPMZ                     | DPMZ | IPMZ                                         | DPMZ |
| Zahl der PMZ unter $10^6$ Milzzellen | 161                                | 259  | 189                 | 291  | 186                      | 309  | 183                                          | 251  |
|                                      | 150                                | 256  | 139                 | 269  | 147                      | 265  | 196                                          | 279  |
|                                      | 166                                | 274  | 143                 | 278  | 160                      | 278  | 162                                          | 269  |
|                                      | 179                                | 279  | 169                 | 294  | 129                      | 248  | 161                                          | 296  |
|                                      | 208                                | 271  | 136                 | 260  | 135                      | 257  | 135                                          | 255  |
|                                      | 192                                | 308  | 157                 | 283  | 160                      | 286  | 148                                          | 248  |
| Mittelwert                           | 176                                | 275  | 156                 | 279  | 153                      | 274  | 164                                          | 266  |
| Standardabweichung                   | 23                                 | 22   | 21                  | 13   | 21                       | 22   | 22                                           | 19   |
| Signifikanz                          | -                                  | -    | -                   | -    | -                        | -    | -                                            | -    |

Tabelle 4

|                                         | Applikation<br>von 10 mg<br>aggregiertem<br>Gammaglobulin |      | Applikation<br>von<br>normalem<br>Gammaglobulin |      | unbehandelte,<br>sensibilisierte<br>Kontrollgruppe |      |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------------------------|------|-------------------------------------------------|------|----------------------------------------------------|------|
|                                         | DPMZ                                                      | IPMZ | DPMZ                                            | IPMZ | DPMZ                                               | IPMZ |
| Zahl der PMZ unter<br>$10^6$ Milzzellen | 141                                                       | 263  | 158                                             | 291  | 169                                                | 303  |
|                                         | 139                                                       | 234  | 120                                             | 281  | 135                                                | 273  |
|                                         | 151                                                       | 257  | 131                                             | 254  | 121                                                | 273  |
|                                         | 169                                                       | 265  | 146                                             | 266  | 146                                                | 278  |
|                                         | 155                                                       | 289  | 102                                             | 243  | 129                                                | 268  |
|                                         | 182                                                       | 289  | 109                                             | 267  | 150                                                | 290  |
| Mittelwert                              | 156                                                       | 266  | 128                                             | 267  | 142                                                | 278  |
| Standardabweichung                      | 14                                                        | 21   | 22                                              | 17   | 17                                                 | 17   |
| Signifikanz                             | -                                                         | -    | -                                               | -    |                                                    |      |

Tabelle 5

## V. Diskussion:

Ein Einfluß von Immunkomplexen auf die zelluläre Antikörperbildung konnte nachgewiesen werden. Dies war jedoch ausschließlich nach Injektion von Komplexen aus HS und Anti-HS der Fall, während in den übrigen Fällen ein gesicherter Einfluß auf die Antikörperbildung nicht demonstriert werden konnte. Das Ergebnis ist überraschend, da es offensichtlich von Bedeutung ist, unter welchen Bedingungen Immunkomplexe verabreicht werden und welche Natur sie aufweisen.

Bei der Analyse der Voruntersuchungen fällt zunächst auf, daß der Einfluß von Komplexen auf eine verhältnismäßig kurze Zeitspanne beschränkt ist. Dies bestätigt, daß bei der Primärantwort gerade die Phase der Antigenerkennung sensibel ist. Hier lassen sich am ehesten die Vorgänge der Sensibilisierung stören. Während die Applikation vor der eigentlichen Sensibilisierung, sofern sie ein gewisses Maß überschreitet, allein schon wegen der Elimination der verabfolgten Immunkomplexe ohne Effekt sein muß, ist dies im Falle einer Verabreichung nach der Sensibilisierung weniger wahrscheinlich. Zwar muß eingeräumt werden, daß nach einer verhältnismäßig langen Zeitspanne, die das für die Antikörperbildung erforderliche Intervall wesentlich überschreitet, eine Beeinflussung der Primärantwort nicht mehr erfolgen kann, doch ist die Verzöge-

rung der Instillation um 24 Stunden, wie sie in den vorliegenden Untersuchungen vorgenommen worden ist, eine Zeitspanne, in der die proliferativen Vorgänge mit großer Dynamik ablaufen. Damit kann mit Vorbehalt ausgesagt werden, daß Immunkomplexe nicht die Zellkinetik im Sinne einer Hemmung oder Steigerung des Wachstums, sondern eher die ersten Stufen der Immunantwort beeinflussen, nämlich die Erkennung des Antigens.

Von geringerer Bedeutung sind in diesem Zusammenhang die Ergebnisse der Vorversuche mit Veränderung der übertragenen Komplex-Menge. Hier ist leicht einzusehen, daß die Instillation einer geringen Menge von Immunkomplexen nur wenig Einfluß auf die Primärantwort nehmen kann. Unverständlich bleibt dagegen zunächst die Tatsache, daß über einen bestimmten Betrag hinaus gehende Mengen ohne erkennbare Wirkung bleiben, bzw. auch einen gegenteiligen Effekt nach sich ziehen. In diesem Zusammenhang muß daran erinnert werden, daß durch eine Überschwemmung mit Immunkomplexen eine der Toleranz entsprechende Situation provoziert werden kann.

Bei Berücksichtigung der aus den Vorversuchen gewonnenen Ergebnisse muß die für den Hauptversuch gewählte Versuchsanordnung hinsichtlich Menge des applizierten Antigens und Zeitpunkt der Verabreichung als geeignet bezeichnet werden, unter den gegebenen Verhältnissen

zuverlässige Befunde zu liefern.

Somit beschränkt sich im folgenden die Diskussion auf die Art der Immunkomplexe.

Auffallend ist die Tatsache, daß allein die aus HS - Anti-HS gebildeten Komplexe auf die Immunantwort einen Einfluß zeigten. Eine Auszeichnung gegenüber den anderen Komplexen und dem hitzeaggregierten Immunglobulin kann demnach nur durch den unterschiedlichen Aufbau der Immunkomplexe selbst erklärt werden. Nun besteht HS aus vielen Einzelproteinen, die im Anti-HS ihren jeweiligen Reaktionspartner vorfanden, sodaß ein heterogenes Gemisch von verschiedenen Antigen-Antikörper-Systemen vorlag. Die Vorstellung, daß sich in diesem Komplexgemisch ein besonderes Aggregat befand, das die Stimulation bewirkt hat, ist nicht zutreffend, weil die Einzellösungen keine Beeinflussung der Immunantwort zeigten.

Es muß jedoch eingeräumt werden, daß ein derartiger Faktor möglicherweise erst durch die spezifische Bindung effizient wurde. Darüberhinaus ist es denkbar, daß in dem heterogenen Gemisch andere Faktoren durch unspezifische Bindung bzw. Adsorption enthalten waren.

Wichtigster Gesichtspunkt ist die unterschiedliche Valenz der zahlreichen Komplexe. Während bei RSA - Anti-RSA der Äquivalenzbereich exakt definiert ist, kann eine derartige Größe für das Serum mit Bezug auf den

unterschiedlichen Gehalt an Einzelproteinen nicht genau angegeben werden. Daher waren im HS - Anti-HS Komplexe wechselnder Äquivalenz enthalten. Auf Grund des biologischen Verhaltens in den verschiedenen Bereichen läßt sich auf dieser Basis eine Deutung finden, weshalb nur HS - Anti-HS - Komplexe stimulierend wirken.

Die Frage der Komplementbeteiligung ist in den vorliegenden Untersuchungen nicht geprüft worden, doch ist ein Einfluß dieses Systems mit Bezug auf eine unspezifische Stimulation des Immunsystems nicht bekannt.

Das Fehlen einer Wirkung aggregierter Immunkomplexe zeigt, daß eine Aggregation von Immunglobulinen allein nicht ausreicht, das Immunsystem zu stimulieren. Hier fehlt eine besondere strukturelle Veränderung, etwa der Immunproteine, nach spezifischer Bindung.

Die Frage nach dem Wirkungsmechanismus bleibt unbeantwortet. Die i.p. Applikation läßt viele Deutungsmöglichkeiten offen, die sich daraus ergeben, daß Komplexe, immunkompetente Zellen und Antigen frei miteinander reagieren konnten. Der direkte Kontakt der Komplexe mit immunkompetenten Zellen könnte bedeuten, daß dies Ursache für eine gesteigerte Aktivität dieser Zellen war. Andererseits ist nicht ausgeschlossen, daß sich die Immunkomplexe an die Erythrozyten anlagerten und so eine Erhöhung der Antigenität, etwa durch beschleunigte

Inkorporation, bewirkten.

Die Untersuchungen lassen eine schlüssige Deutung der Ergebnisse nicht zu. Sicher ist, daß dieser Effekt unspezifisch ist und auf einer Interaktion der Komplexe mit immunkompetenten Zellen und Antigen beruht.

## VI. Zusammenfassung

Zum Nachweis einer Beeinflussung der zellulären Antikörperbildung durch Immunkomplexe wurden insgesamt 19 Gruppen von AKR-Mäusen mit Hammelerythrozyten sensibilisiert. Sie erhielten am selben Tag Immunkomplexe aus Humanserum oder Rinderserumalbumin und den entsprechenden, von Kaninchen gewonnenen Antiseren. Vergleichsweise wurden hitzeaggregiertes Gammaglobulin, normales Gammaglobulin und die Reaktionspartner in isolierter Form verabreicht. Die zelluläre Antikörperbildung wurde mit der Plaque-Technik quantitativ erfaßt.

Im Vergleich zu den unbehandelten Tieren zeigte sich nach Applikation von HS- Anti-HS-Komplexen eine gesteigerte Immunglobulinproduktion, während aggregiertes Gammaglobulin, andere Immunkomplexe oder die isolierten Antigene und Immunseren keinen Einfluß zeigten.

Die Ergebnisse beweisen, daß Immunkomplexe die humorale Primärantwort steigern können, wobei jedoch durch diese Versuche nicht näher definierbare Bedingungen gestellt sind. Als Wirkungsmechanismus muß eine Aktivitätssteigerung von immunkompetenten Zellen nach Kontakt mit Immunkomplexen angenommen werden.

## VII. Literaturverzeichnis

1. ADA, G.L., LANG, P.G., PLYMIN, G.:

Antigen tissues.

V. Effect of endotoxin on the fate of, and on the immune response to serum albumin and to albumin antibody complexes.

Immunology 14, 825 - 836, (1968).

2. BENACERRAF, B. (and others):

Phagocytose d'une fraction du sérum chauffé et iodé par le système réticulo-endothélial et comportement consécutif de ses cellules à l'égard d'autres colloïdes.

Ann. Inst. Pasteur 89, 601-620 (1955).

3. BENACERRAF, B., HALPERN, B.N., BIOZZI, G., STIFFEL, C., MOUTON, D.:

Phagocytosis of heat-denatured human serum albumin labelled with <sup>131</sup>I and its use as a means of investigating liver blood flow.

Brit. J. Exp. Path. 38, 35-48 (1957).

4. BENACERRAF, B., SEBESTYEN, M., COOPER, N.S.:

The clearance of antigen-antibody complexes from the blood by the reticulo-endothelial system.

J. Immun. 82 (2), 131-137 (1959).

5. BIOZZI, G., BENACERRAF, B., STIFFEL, C., HALPERN, B.N., MOUTON, D.:

Influence de la quantité d'iode fixée sur les protéines sériques normales et modifiées par la chaleur sur la phagocytose de ces colloïdes par les cellules du S.R.E.

Ann. Inst. Pasteur 92 (1), 89-111 (1957).

6. BLOCH - SHTACHER, N., HIRSCHHORN, K., UHR, J.W.:  
The response of lymphocytes from nonimmunized humans to antigen-antibody complexes.  
Clin. Exp. Immunol. 3, 889-899 (1968).
7. DRESSER, D.W. and WORTIS, H.H.:  
Use of an antiglobulin serum to detect cells producing antibody with low hemolytic efficiency.  
Nature 208, 859-861 (1965).
8. FRANCIS, G.E., HAWKINS, J.D., WORMALL, A.:  
The use of radioactive isotopes in immunological investigations X. The fate of some intravenously injected native proteins in normal and immune rabbits.  
Biochem. J. 65 (3), 560-569 (1957).
9. INGRAHAM, J.S. and BUSSARD, A.:  
Application of a localized hemolytic reaktion for specific detection of individual antibody-forming cells.  
J. Exp. Med. 119, 667 (1954).
10. JERNE, N.K., NORDIN, A.A.:  
Plaque formation in agar gel by single antibody-producing cells.  
Science 140, 405 (1963).
11. LANG, P.G., ADA, G.L.:  
Antigen in tissues.  
IV. The effect of antibody on the retention and localization of antigen in rat lymphnodes.  
Immunology 13, 523-534 (1967).

12. LEVENSON, H., COCHRANE, C.G.:  
Nonprecipitating antibody and the Arthus-vasculitis.  
J. Immun. 92, 118-127 (1964).
13. MÖLLER, G.:  
Induction of DNA synthesis in normal human lymphocyte cultures by antigen-antibody complexes.  
Clin. exp. Immunol. 4, 65-82 (1969).
14. NOSSAL, G.J.V., ADA, G.L., AUSTIN, C.M., PYE, J.:  
Antigens in immunity.  
VIII. Localization of 125 J labelled antigens in the secondary response.  
Immunology 9, 349-357 (1965).
15. SMITH, T.:  
Active immunity produced by so-called balanced or neutral mixtures of diphtheria toxin and antitoxin.  
J. Exper. M. 11, 241-256 (1909).
16. SPECTOR, W.G., HEESOM, N.:  
The production of granulomata by antigen-antibody complexes.  
J. Path. 98, 31-39 (1969).
17. STELOS, P.:  
Salt fractionation.  
in: Handbook of Experimental Immunology.  
Ed. D.M. Weir (Blackwell 1967).
18. TADA, T., ISHIZAKA, K.:  
Arthus type inflammation with rabbit  $\gamma$ M-antibody.  
J. Immun. 96, 112-118 (1966).

19. UHR, J.W., MÖLLER, G.:  
Regulatory effect of antibody on the immune response.  
Advances Immun. 8 , 81-127 (1968)
20. UHR, J.W., PHILLIPS, J.M.:  
In vitro sensitization of phagocytes and lymphocytes  
by antigen-antibody complexes.  
Ann. N.Y. Acad. Sci. 129 , 793-798 (1966).
21. UNANUE, E.R., DIXON, F.J.:  
Experimental glomerulonephritis. Immunological events  
and pathogenetic mechanism.  
Advances Immun. 6 , 1-91 (1967).
22. WEBER, E.:  
Grundriß der biologischen Statistik.  
Fischer Verlag , Stuttgart 1967.
23. WEIGLE, W.O.:  
Elimination of antigen-antibody complexes from  
sera of rabbits.  
J. Immun. 81 (3), 204-213 (1958).
24. WEIGLE, W.O.:  
The nature of antigen-antibody complexes formed in  
rabbits during an immune response to bovine serum  
albumin.  
J. Exp. Med. 107 (5), 653-663 (1958).
25. WIGZELL, H.:  
Use of humoral or cellbound antibody to achieve  
depression of immunological reactivity.  
in: The immune response and its suppression.  
Ed. E. Sorkin/ S. Karger Basel-New York (1969).

Herrn Prof. Dr. F. Scheiffarth danke ich aufrichtig  
für die Überlassung des Themas und die Übernahme des  
Referates.

Seinem Assistenten Herrn Dr. H.W. Baenkler danke ich  
ganz besonders für die Unterstützung bei der Durch-  
führung der Arbeit.

## Lebenslauf

Am 12. März 1944 wurde ich, Burckhard Walter Friedrich Wilhelm Freiherr Loeffelholz von Colberg, als erster Sohn des Staatsanwalts Wilhelm Freiherr Loeffelholz von Colberg und seiner Ehefrau Caroline, geb. Reck, in Herrnhut/Oberlausitz geboren.

Von 1950 bis 1954 besuchte ich die Grundschule in den Städten Immenstadt, Ebermannstadt und Coburg, anschließend bis zum Abitur 1964 das humanistische Gymnasium in Coburg.

Nach zweijähriger Dienstzeit bei der Bundeswehr begann ich im Wintersemester 1965 mein Medizinstudium an der Friedrich Alexander Universität Erlangen-Nürnberg.

Im August 1966 legte ich hier das Vorphysikum, im November 1968 das Physikum ab.

Am 9. Februar 1972 beendete ich mein Studium mit dem medizinischen Staatsexamen.

Zur Zeit bin ich als Medizinalassistent an der chirurgischen Abteilung des Allgemeinen Krankenhauses in Bamberg tätig.





## **Offsetdruck-Fotodruck**

**J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990**